

F06_Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse qui permet de caractériser des produits.

A- Principe

La chromatographie repose sur la séparation physique de mélanges en leurs constituants; elle est basée sur les différences d'interactions intermoléculaires des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile, l'éluant.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide est un solvant ou un mélange de solvants.

B- Mise en œuvre

1°) Préparation de la cuve

- Verser l'éluant dans la cuve sur une hauteur de 0,5 à 1 cm (environ 10 mL).
- Fermer la cuve hermétiquement et attendre la saturation (15-20 minutes en général, 5 minutes s'il fait chaud). La saturation n'a d'intérêt que pour une meilleure reproductibilité des résultats.

2°) Dépôt de l'échantillon

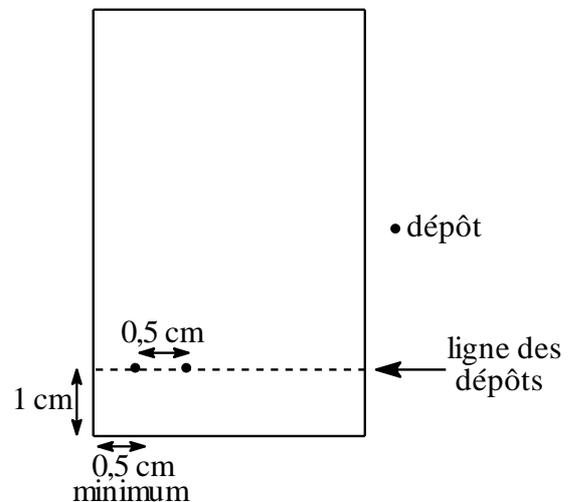
- Préparer les échantillons dans des tubes à hémolyse : L'échantillon est toujours mis en solution très diluée (1 à 5%) dans un solvant volatil (*quelques cristaux ou gouttes du produit dans 5 mL de solvant*).

- Tracer délicatement au crayon à papier la ligne de dépôts sur la plaque CCM à 1 cm du bord inférieur.

- Les solutions sont déposées, à l'aide de capillaires propres, en des points repérés sur la ligne de dépôts et distants d'environ 0,5 cm. Le diamètre de la tache, au moment du dépôt, ne doit pas dépasser 3 mm ; si on veut augmenter la quantité déposée, on effectue plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement (à l'aide d'un séchoir) la plaque entre deux dépôts.

Un dépôt ne doit pas être situé à moins de 0,5 cm d'un des bords verticaux de la plaque.

●* Travailler sur un espace propre, ne pas déposer ses doigts sur la face de la plaque où est déposée la silice.



3°) Développement de la plaque

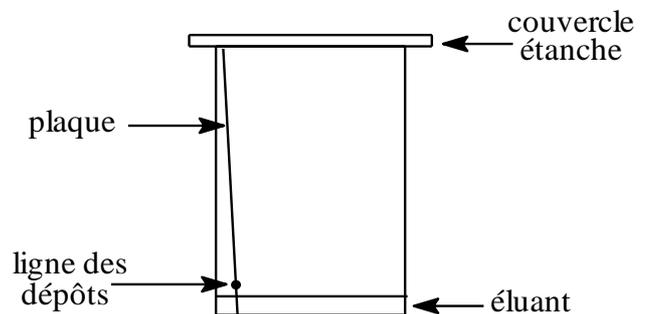
Il consiste à faire migrer l'éluant sur la plaque par capillarité, les dépôts sont alors entraînés vers le haut de la plaque à différentes vitesses.

- Avant d'introduire la plaque dans la cuve, vérifier que le niveau de l'éluant ne dépassera pas la ligne de dépôts de la plaque sinon les dépôts risquent de « tremper » dans l'éluant).

- Placer la cuve dans un coin de votre paillasse.

- Déposer alors la plaque dans la cuve, le plus verticalement possible, en prenant soin que la ligne des dépôts ne touche pas l'éluant.

- Fermer la cuve hermétiquement et ne plus la déplacer durant la migration de l'éluant.



- Quand le front de l'éluant arrive à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque, ouvrir la cuve, retirer la plaque, repérer rapidement le front de l'éluant au crayon à papier et la sécher rapidement (à l'aide d'un séchoir).

4°) Révélation de la plaque

Si les constituants de l'échantillon déposé sont colorés, la séparation de ces constituants est observable directement.

Dans le cas contraire (cas le plus courant), il existe plusieurs modes de révélation :

- exposition de la plaque aux U.V. : si l'adsorbant a subi un traitement spécial, les constituants absorbant dans l'U.V. (à une longueur d'onde de 254 nm ou 360 nm) apparaissent sous forme de taches roses.
- révélation de la plaque dans un récipient fermé contenant quelques cristaux de diiode : le diiode formant avec de nombreux composés organiques des complexes bruns, les constituants de l'échantillon apparaissent sous forme de taches brunes.
- pulvérisation d'un réactif spécifique permettant de faire apparaître les constituants de l'échantillon sous forme de taches colorées (KMnO_4 , H_2SO_4 , acide phosphomolybdique, ninhydrine, etc.).

C- Exploitation

5°) Présentation de la plaque CCM

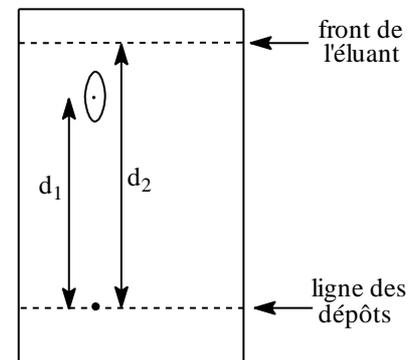
Les dépôts doivent être repérés et ces repères doivent être légendés.

L'éluant et le mode de révélation doivent être précisés.

6°) Calcul des rapports frontaux R_f .

Par définition, le R_f d'un composé est égal au rapport de la distance parcourue par le composé (milieu de la tache) à celle parcourue par le front de l'éluant.

$$R_f = \frac{d_1}{d_2}$$



7°) Interprétation

- Caractérisation du produit : par comparaison des rapports frontaux du dépôt du produit synthétisé et du produit de référence, on peut conclure sur la nature du produit. (Exemple : « Comme le dépôt du produit synthétisé a le même rapport frontal (0,65) que celui de l'acide benzoïque de référence, on peut conclure que le produit synthétisé est bien de l'acide benzoïque. »)
- Pureté du produit : la CCM ne permet pas de dire si le produit synthétisé est pur mais permet de caractériser certaines impuretés. Si le dépôt correspondant au produit synthétisé présente plusieurs tâches c'est que le produit contient des impuretés, qui peuvent être caractérisées (comparer les rapports frontaux de ces tâches à celles des autres dépôts de référence [réactifs, produits secondaires, intermédiaires de réaction...]). ● Si le dépôt correspondant au produit synthétisé ne présente qu'une seule tâche, il n'est pas possible de conclure que le produit est pur car certaines impuretés peuvent ne pas apparaître avec le mode de révélation choisi. On choisira la formulation : « L'acide benzoïque synthétisé semble pur ».